Aus dem Pathologischen Institut
der Universität Düsseldorf

(Direktor: Professor. Dr. W. Hort)

Schädigung der adrenergen Nerven des Rattenherzens bei experimenteller Cholostase

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Norbert Wolters

1979

1980

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543910_0074

Aus dem Pathologischen Institut
der Universität Düsseldorf

(Direktor: Professor. Dr. W. Hort)

Schädigung der adrenergen Nerven des Rattenherzens bei experimenteller Cholostase

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Norbert Wolters

1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez.:

Referent
gez.:

Korreferent
gez.:

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Übersicht und Zusammenfassung	3
Einleitung	5
Material und Methoden	6
Ergebnisse	8
Diskussion	13
Legenden zu den Abbildungen und der Tabelle	19
Bildmaterial und Tabelle	
Literaturverzeichnis	

Schädigung der adrenergen Nerven des Rattenherzens bei experimenteller Cholestase

In jüngster Zeit ist die Bedeutung von Störungen des Katecholaminstoffwechsels bei Leberschädigungen wiederholt klinisch und tierexperimentell untersucht worden. Dabei konnte eine Beeinträchtigung der kardiovaskulären Reaktionsbereitschaft klinisch nachgewiesen werden. Bei akutem experimentellen Coma hepaticum der Ratte wurde ein Transmitterabfall des Gehirns festgestellt. Die Frage, ob Veränderungen des Transmittergehaltes des Herzgewebes und der intrakardialen Nerven auch bei chronischen Leberschädigungen auftreten, wurde am Modell der Ligatur des Ductus choledochus mit kombinierten biochemischen, histochemischen und elektronenmikroskopischen Methoden untersucht.

Bei 79 männlichen Wistar-Ratten wurde der gemeinsame Ductus choledochus unterbunden und bei 45 Tieren eine Scheinoperation nur mit Unterminierung der Gallenwege durchgeführt. Noradrenalin und Adrenalin wurden im wöchentlichen Abstand säulenchromatographisch extrahiert und fluorimetrisch bestimmt. Proben derselben Herzen von standardisierter Lokalisation wurden nach der dritten, siebten und elften Woche histochemisch nach der Falck'schen Methode und elektronenmikroskopisch in üblicher Weise aufgearbeitet und untersucht.

Im Vergleich zu den scheinoperierten Ratten nahm die Noradrenalinkonzentration im Mittel aller Ductusligierten Ratten um 58,2 % ab. Signifikante Unterschiede ergaben sich erst ab der 6. Woche und blieben bis zum Versuchsende, der 17. Woche bestehen. Der Adrenalingehalt war, wie erwartet, niedrig und wechselnd und zeigte keine signifikante Veränderung während des Experiments.
Bei der histochemischen Untersuchung mit der Falck'schen Methode zeigte sich nach der 7. Woche eine anhaltende Reduktion der spezifischen Fluoreszenz der adrenergen Herznerven, während die Serotoninfluoreszenz in den Mastzellen unverändert blieb. Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung wurden besonders ab der 7. Woche zunehmende degenerative Veränderungen in den autonomen Nerven mit Mitochondrienschwellung, axolytischen Veränderungen, Lipidanhäufungen sowie Vermehrung und Schwellung agranulärer Vesikel beobachtet. Auch geringere Veränderungen des Myokards in Form einer Degeneration von Mitochondrien wurden gesehen.

In der Diskussion werden mögliche Ursachen der Katecholaminverarmung und die klinische Relevanz dieser Befunde dargelegt.

Einleitung

Bei schweren Stoffwechselstörungen, die klinisch mit einem Koma einhergehen, wird schon seit längerem eine Beeinträchtigung der katecholaminreichen Areale des Gehirns (VOGT, 1954) vermutet. FISCHER konnte 1974 zeigen, daß beim akuten experimentellen Leberkoma der Ratte eine Reduktion der zentralen Katecholamine auftritt. Auch das periphere sympathische System kann bei komatösen Stoffwechselstörungen beeinträchtigt sein, Klinische Beobachtungen haben gezeigt, daß auch beim hepatischen Koma und bei chronischen Leberleiden die kardiovaskuläre Reaktionsbereitschaft beeinträchtigt ist (LUNZER et al. 1975). Eine Störung des peripheren sympathischen Nervensystems darf also bei einer chronischen Schädigung der Leber vermutet werden.

Am Modell der experimentellen chronischen Leberschädigung durch Ligatur des Ductus choledochus sollte an Ratten die Frage geprüft werden, ob dabei eine Veränderung des Transmittergehaltes des Herzens eintritt. Kombinierte histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen sollten zeigen, ob der Transmittergehalt einzelner Nerven verändert ist und ob eine Schädigung der Herznerven auch elektronenmikroskopisch faßbar würde.

Material und Methoden

124 männliche Wistar-Ratten, mit einem mittleren Körpergewicht von 18o g, wurden unter sterilen Kautelen in Äthernarkose operiert. Nach einem medianen Oberbauchschnitt wurde der gemeinsame Gallengang bei 79 Ratten mit Seide ligiert, bei 45 Ratten wurde lediglich eine Scheinoperation mit Unterminierung des Gallenganges vorgenommen. 5 Tiere starben intraoperativ, 22 Tiere in der postoperativen Phase. Die verbliebenen Ratten wurden im zirka wöchentlichen Abstand von der 1. bis zur 17. Woche nach der Operation getötet. Alle überlebenden Tiere mit und ohne Ductus-Ligatur nahmen während 17 Wochen kontinuierlich um 2oo g zu. Der Erfolg der Ductus-Ligatur ließ sich makroskopisch an einer Ausweitung des Gallenganges bis maximal 1,5 cm im Durchmesser und histologisch durch den Nachweis zunehmender Gallengangsproliferationen ab der ersten postoperativen Woche kontrollieren (Abb. 1), die als Folge einer effektiven Ductus-Ligatur bekannt sind (OGATA, 1913; KIMBALL, 1933; MOORE et al., 1942; ZWECKER, 1949; POPPER, 1968; HUTH et al., 1970; POPPER und SCHAFFNER, 1970).

Die Tötung der Tiere erfolgte durch Nackenschlag. Der Thorax wurde daraufhin sofort eröffnet und die Vena cava inferior so schnell wie möglich abgeklemmt, um eine Einschwemmung und Aufnahme von Katecholaminen aus dem Nebennierenmark so gering wie möglich zu halten.

Bei den biochemischen Untersuchungen wurden jeweils die Vorhöfe einschließlich der beiden Herzohren, sowie die freie Wand des rechten Ventrikels von 92 Ratten gemeinsam analysiert, wobei die genannten Abschnitte jeweils von 2 Rattenherzen zusammen aufgearbeitet wurden (BORCHARD und VOGT, 1970). Das durchschnittliche Feuchtgewicht dieser Anteile betrug während der gesamten Versuchsdauer unverändert 0,27 g, wohingegen die Muskelmasse der linken Ventrikel in dieser Zeit von 0,6 g bis auf etwa 0,8 g altersbedingt zunahm.

Nach der Homogenisierung und Eiweißfällung wurden die Katecholamine mittels eines sauren Austauscherharzes (Dowex-X8-5O, mesh 4OO, Firma Sigma) entsprechend der Extraktionsmethode von BERTLER, CARLSSON und ROSENGREEN (1958) säulenchromatographisch abgetrennt. Die weitere fluorimetrische Methode der Katecholaminbestimmung erfolgte entsprechend einer Modifikation (BORCHARD und VOGT, 1970) der Trihydroxiind olmethode von v.EULER und LISHAJKO (1961). Einzelheiten der Methode werden an anderer Stelle ausführlich dargestellt (BORCHARD, im Druck).

Die mittlere Wiederfindungsquote betrug 76 ± 1 % und lag damit im Bereich früherer Untersuchungen (BÖRCHARD und VOGT, 1970). Die angegebenen Werte wurden nicht um den Fehlbetrag korrigiert. Der Variationskoeffizient für Noradrenalin betrug bei 20 Bestimmungen im Mittel 7,2 %.

Die statistische Auswertung der biochemischen Ergebnisse erfolgte mit einem Tischrechner (Olivetti 101). Es wurde die Irrtumswahrscheinlichkeit p ermittelt. Die Mittelwerte der Katecholaminkonzentrationen der Rattenherzen wurden untereinander mit dem Student'schen Test verglichen.
Für die fluoreszenzmikroskopische Untersuchung der adrenergen Herznerven nach der Methode von FALCK (1962) sowie FALCK und Mitarbeitern (1965) wurden verschiedene Abschnitte von 6 Rattenherzen im Abstand von drei, sieben und elf Wochen aufgearbeitet. Einzelheiten der Methode folgen der neueren Beschreibung von BJÖRKLUND et al. (1972). Anstelle der dort aufgeführten Trocknungsvorrichtung wurde die Gefriertrocknungsanlage GT-1 der Firma Leybold-Hereus mit Trocknungszeiten von 3 Tagen verwandt. Anschließend erfolgte die Inkubation mit 80° C heißen Paraformaldehyddämpfen von 65 - 70 % Luftfeuchtigkeit (Äquilibrierung nach HAMBERGER et al., 1965). Bei der Fluoreszenzmikroskopie wurden als Anregungsfilter die Filter 2 X BG-3 und AL-405, als Emissionsfilter das Filter K-470 verwendet. Die photographische Dokumentation erfolgte mit den Filmen Kodak Ektachrom high-speed sowie Pan-TRI-X.
Für lichtmikroskopische Untersuchungen wurden die linken Ventrikel der Rattenherzen und Anteile der Rattenlebern in 10 %igem Formalin fixiert und nach Paraffineinbettung in der Hämatoxilin-Eosin-Färbung und in der Eisenhämatoxilin-Pikrofuchsinfärbung in Kombination mit Resorchin aufgearbeitet.
Elektronenmikroskopische Untersuchungen wurden fünf, sieben und zehn Wochen nach der Ductus-Ligatur bzw. Scheinoperation, an jeweils 2 Rattenherzen vergleichsweise durchgeführt. Nach der Fixation des Materials in eiskaltem Glutaraldehyd-Phosphatpuffer-Gemisch erfolgte eine Nachfixation mit 1 %igem gepuffertem Osmiumtetroxid in üblicher Weise. Nach anschließender Entwässerung durch Aceton und Einbettung in Methacrylat wurde mit Bleihydroxid und Uranylacetat kontrastiert. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden mit dem Elmi-Elektronenmikroskop der Firma Siemens gemacht.

Ergebnisse

Bei den biochemischen Bestimmungen betrug die durchschnittliche Noradrenalinkonzentration im gemeinsam untersuchten Gewebe der Vorhöfe und der freien Wand der rechten Kammer bei allen 36 scheinoperierten Kontrollratten 1,12 ± 0,053 ug/g Feuchtgewicht. Für alle 56 Tiere mit Ductus-Ligatur ergab sich in denselben Herzabschnitten ein Abfall der mittleren Konzentration auf 0,53 _ 0,052 ug/g Feuchtgewicht, welcher einem Rückgang auf 58,2 % des Ausgangswertes entspricht. Die Werte der Einzelbestimmungen sind in Abb. 2 dargestellt. Die Konzentration des Noradrenalins in den Herzen der Ratten mit Ductus-Ligatur unterschied sich in den ersten 5 Wochen nicht signifikant von der Transmitterkonzentration der scheinoperierten Tiere (Abb. 2). Nach der 6. Woche trat aber eine zunehmende und bleibende Verarmung des Myokards an Noradrenalin ein. Der statistische Vergleich zwischen Katecholaminkonzentration im Herzen der Ratten mit und ohne Ductus-Ligatur mit dem Student'schen Test ergab für das 2. Zeitintervall vom 31. bis 60. Tag sowie für das 3. Zeitintervall vom 61. bis 123. Tag einen statistisch hochsignifikanten Unterschied (p = 0,001). Die Adrenalinkonzentration bei den scheinoperierten Ratten betrug im Durchschnitt 0,19 ± 0,042 ug/g Feuchtgewicht. Dies entspricht ungefähr 17 % der Noradrenalinkonzentration in denselben Herzabschnitten. Die Adrenalinwerte für Ratten mit Ductus-Ligatur liegen mit durchschnittlich 0,13 ± 0,02 ug/g Feuchtgewicht um zirka 31,6 % niedriger als die der scheinoperierten Tiere. Ein Unterschied zwischen diesen Werten ließ sich statistisch jedoch nicht sichern. Es wurden bei den ersten drei Katecholaminbestimmungen im Rattenherzen, bei denen der venöse Zustrom aus der Vena cava inferior nicht unterbrochen war, leicht erhöhte Adrenalinwerte als in Herzen bei abgeklemmter Vena

cava inferior gefunden.
Bei der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung fand sich bei den scheinoperierten Ratten die bereits früher beschriebene (BORCHARD et al., 1975) unterschiedlich dichte Lagerung von adrenergen Nervenfasern in verschiedenen Abschnitten des Herzens. Die Herzohren und Vorhöfe zeigen eine relativ dichte Versorgung des Myokards durch plexusartige Terminalfasern. Die adrenergen Nerven verlaufen in den Ventrikeln gestreckt und parallel zu den Muskelfasern. Aber auch unterschiedlich stark ausgebildete perivaskuläre Geflechte wurden beobachtet. Außer den grünblau fluoreszierenden adrenergen Terminalfasern finden sich auch gelblich fluoreszierende Mastzellen.

Bei den Ratten mit Ligatur des Ductus choledochus wurde die gleiche Verteilung der Nervenfasern, jedoch eine erhebliche Schwächung der Fluoreszenzintensität (Abb. 3) gefunden. Diese betraf sowohl die Terminalfasern zwischen den Myokardzellen als auch diejenigen um größere Gefäße, wobei stellenweise subendokardial gelegene Fasern etwas heller fluoreszierten. Eine nennenswerte Veränderung der Mastzellfluoreszenz wurde dagegen zwischen den beiden Gruppen von Ratten nicht beobachtet.
Bei der lichtmikroskopischen Untersuchung der Herzen wurden besonders im Frühstadium nach der Ductus-Ligatur nur spärliche frische Einzelzellnekrosen gesehen. Bei den späteren Operationsintervallen fanden sich keine sicheren morphologischen Unterschiede in den Herzen der scheinoperierten Ratten sowie der Tiere mit Ductus-Ligatur.
Bei den elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Kontrolltiere wurden die vegetativen Terminalfasern in typischer Verteilung beobachtet (Abb. 4a). Dabei liegen

cholinerge und adrenerge Terminalfasern dicht nebeneinander im Cytoplasma der Schwannschen Zellen. Sie gehen stellenweise in spindelartige Auftreibungen mit dicht liegenden Neurogranula, sog. Varikositäten, über. Die adrenergen Nerven enthalten überwiegend kleine elektronendichte Granula von zirka 300 - 600 Å Durchmesser, die cholinergen Fasern dagegen große, wenig kontrastreiche Granula von zirka 600 Å Durchmesser. In beiden Terminalfasern kamen außerdem vereinzelt große, dichte Körper von zirka 1200 Å Durchmesser vor, die Dense bodies in anderen Organen entsprechen. Die relativ kleinen axonalen Mitochondrien zeigen gelegentlich eine geringfügige Schwellung. Lipofuszin konnte in normalen Axonen nicht beobachtet werden. Synapsen mit Myokardzellen wurden in den untersuchten Herzabschnitten nicht gefunden. Das Cytoplasma der Schwannschen Zellen umhüllt die vegetativen Nerven mit Ausnahme der Varikositäten über weite Strecken. Nicht ummantelte Profile von Terminalfasern wurden nur selten gesehen. Die Kerne der Schwannschen Zellen sind von ovaler, zum Teil randständig leicht eingedellter Konfiguration. Das Kernchromatin ist unregelmäßig netzförmig kondensiert und im Bereich der Kernmembran verdichtet. Im kernnahen Cytoplasma fanden sich neben Mitochondrien auch ein rauhes endoplasmatisches Retikulum, reichlich freie Ribosomen sowie Anschnitte des Golgi-Feldes. Nach außen wird die Schwannsche Zelle - im Gegensatz zu Fibrozyten - durch eine Basalmembran begrenzt, die im Bereich der Varikositäten nur noch isoliert den Nervenfortsatz umschließt.

Das Myokard ließ die bekannte Architektur mit intakten Myofilamenten, unauffälligen Mitochondrien und Glanzstreifen erkennen. In der Nachbarschaft des Kernes wurden

sogenannte spezifische Granula und Anteile des Golgi-Feldes beobachtet. Ein endoplasmatisches Retikulum konnte nicht gesehen werden. Das tubuläre System war nicht erweitert.
Bei den Ratten mit Ligatur des Ductus choledochus fand sich nach 7 und 10 Wochen die gleiche Verteilung und Grundstruktur der vegetativen Nerven, wie für die scheinoperierten Tiere beschrieben wurde (Abb. 4b). In den Terminalfasern wurde bisweilen ein Verdämmern von Axonen oder eine fokale intracytoplasmatische Degeneration in Form eines beginnenden Cytosegrosoms (Abb. 5b) beobachtet. Die isolierten Veränderungen der Zellorganellen betrafen häufiger Mitochondrien mit Schwellung, Ausbildung von Myelinfiguren und mit einer ungewöhnlichen herdförmigen Vermehrung, die als Mitochondriose bezeichnet wird (Abb. 6b, c). In einem mitochondrienreichen Axon wurden Teilungsfiguren von Mitochondrien gesehen (Abb. 6a). Veränderungen der Katecholamingranula traten in Form einer herdförmigen unregelmäßigen Degranulierung (Abb. 7a) und einer ungewöhnlichen Ballonierung (Abb. 7c) auf. In den Axonen fanden sich einzelne Riesenmikrosomen (Abb. 7b) und auch Fettropfen (Abb. 7a).

Die Schwannschen Zellen zeigten etwas vergrößerte Kerne. Ihr Cytoplasma ließ immer wieder herdförmige Ansammlungen von Fettropfen und Lipofuszingranula (Abb. 4b) erkennen. Gelegentlich wurden hier auch glykogenreiche Areale sowie Herde eines proliferierten rauhen endoplasmatischen Retikulums gefunden. Auch hier kamen Mitochondrienveränderungen mit Schwellung und Myelinfiguren vor (Abb. 4b).
In den Myokardzellen war die Struktur der Myofilamente unauffällig. Dagegen fand sich, bei unregelmäßiger Anordnung der Cristae, eine leichte Vergrößerung aller

Mitochondrien, die zum Teil nur eine filamentäre bis granuläre Matrix erkennen ließen (Abb. 8). An einigen Stellen wurden auch Myelinfiguren der Mitochondrien sowie Ansammlungen von Fettropfen mit Eindellung benachbarter Mitochondrien beobachtet (Abb. 8). In den einzelnen Myokardzellen fiel auch eine leichte Erweiterung des T-Systems auf. Die Kapillaren zeigten keine Besonderheiten.

Diskussion

In den vorliegenden Untersuchungen wurde versucht, die Auswirkungen von Störungen der Leberfunktion auf den Transmittergehalt des Herzens mit mehreren Methoden zu erfassen. Bei den biochemischen Untersuchungen wurde ein Abfall der Noradrenalinkonzentration in den Herzen der Ratten mit Ductus-Ligatur von durchschnittlich 1,12 ug/g Feuchtgewicht auf 0,53 ug/g Feuchtgewicht beobachtet. Dabei wurde ein zeitlicher Abfall der Katecholaminverarmung besonders nach der 6. Woche gefunden, einem Zeitpunkt, zu dem im Tierversuch die Gallengangsproliferationen ganz ausgeprägt sind (siehe Abb. 1). Beim Menschen können deutliche Störungen der Leberfunktion und insbesondere Stoffwechselstörungen der Gallensäuren beobachtet werden (WALLHÖFER et al., 1974). Für den geringen Adrenalingehalt des Herzens, der im wesentlichen durch die Aufnahme von Adrenalin aus dem Nebennierenmark bestimmt wird, wurden dagegen keine signifikanten Unterschiede beobachtet. Beim akuten experimentellen hepatischen Koma konnte FISCHER 1974 mit biochemischen Methoden ebenfalls einen Abfall der Noradrenalinkonzentration im Herzen um 45 - 50 % gegenüber den Kontrolltieren feststellen. Auch beim hepatischen Koma des Menschen wurde in früheren Untersuchungen eine Verringerung der Noradrenalinkonzentration im postmortalen Herzmuskelgewebe gefunden (BORCHARD, im Druck). Es ist daher wahrscheinlich, daß sowohl akute als auch chronische Schädigungen der Leber zumindest im Experiment bei der Ratte eine vergleichbare Reduktion der Noradrenalinkonzentration im Herzen hervorrufen.

Unsere fluoreszenzmikroskopischen Befunde belegen, daß nach sechswöchiger Ductus-Ligatur im Vergleich zu den Kontrolltieren eine Verringerung der Katecholamin-fluoreszenz in den adrenergen Terminalfasern zustande gekommen ist (Abb. 3). Da bei niedrigen Transmitter-konzentrationen die Intensität der Katecholaminfluores-zenz der intraaxonalen Transmitterkonzentration propor-tional ist (RITZEN, 1966; BECKER, 1970) muß angenommen werden, daß die biochemisch erfaßte Noradrenalinverar-mung des Myokards auf diese histochemisch nachgewiesene intraaxonale Transmitterabnahme zurückzuführen ist. Die erhaltene gelbliche Serotoninfluoreszenz der Mastzellen zeigt, daß die fluoreszenzmikroskopischen Befunde nicht Artefakten entsprechen können. Dieser Befund steht im Einklang mit biochemischen Untersuchungen, nach denen die Serotoninkonzentration im Gewebe z.B. bei Hunden mit experimenteller Störung der Leberfunktion normal oder sogar erhöht ist (TYCE, 1967; PARKES, 1970; FISCHER,J.E., 1974; KEKKI, 1974). Vergleichbare biochemische Studien der sympathischen Nerven beim akuten hepatischen Koma bzw. bei chronischer experimenteller Leberschädigung sind uns aus der Literatur nicht bekannt.

Bei anderen Stoffwechselstörungen wurden vereinzelt histochemische Untersuchungen des peripheren adrenergen Systems durchgeführt. In diesem Zusammenhang sind Befunde von WINCKLER et al., 1973 an Parotisbiopsien von urämi-schen Patienten sowie an Parotisdrüsen von Albino-Ratten mit experimenteller Urämie zu erwähnen, die bei unver-ändertem Innervationsmuster eine Entspeicherung der adrenergen Terminalfasern fanden. HENNEMANN und Mitarbeiter fanden 1973 beim experimentellen renalen Koma der Ratten biochemisch eine Verringerung der kardialen Katecholamin-

konzentration auf 72 % der Norm. Die Beeinträchtigung des Katecholaminhaushaltes wurde als "Urämische Sympathikopathie" bezeichnet.
Unter den elektronenmikroskopischen Befunden am Herzen sind besonders die Veränderungen an den vegetativen Nerven hervorzuheben, die vor allem in Form regressiver Alterationen der Mitochondrien auftreten. Außerdem fanden sich auch herdförmige Veränderungen der Struktur der neuronalen Granula mit Schwellung der Granula und Zunahme agranulärer Vesikel. Schließlich wurden fokale Verfettungen in den Nerven und den Schwannschen Zellen gesehen. Bemerkenswert scheinen axolytische Prozesse mit weitgehendem Ausfall einzelner Axone sowie größere fokale intraaxonale Nekrosen zu sein. Die aufgeführten Befunde wurden in ähnlicher Form bei tierexperimenteller Äthioninvergiftung an autonomen Nerven der Rattenparotis beobachtet (DONATH, 1975). In der Arbeit von NOVI (1968) wurden gelegentlich einzelne geschwollene Mitochondrien auch bei normalen Ratten beobachtet.
Die von uns gefundenen mitochondrienreichen Axone wurden beim Menschen im Sinne sensibler Nervenendigungen interpretiert (CHIBA und YAMAUCHI, 1970). Das Spektrum der elektronenmikroskopisch erfaßten Nervenschädigungen, die wir nach Ligatur des Ductus choledochus fanden, ist vergleichbar mit Schädigungen, die meistens nach Quetschung oder Durchtrennung peripherer Nerven hervorgerufen wurden (Literaturübersicht BORCHARD, im Druck). Sie sind ein uniformes unspezifisches Reaktionsmuster in den peripheren vegetativen Nerven, das auch bei anderen Erkrankungen des Herzens z.B. Hypertrophie und Herzmuskelinsuffizienz gefunden wurde (BORCHARD, im Druck). Die elektronenmikroskopischen Befunde dürfen aber als weiterer Hinweis auf eine morphologisch faßbare Störung der adrenergen Transmission verstanden werden.

Zusammenfassend darf also gesagt werden, daß mit verschiedenen Methoden bei der Ratte mit experimenteller Leberschädigung eine Verarmung des Myokards an Neurotransmittern nachgewiesen werden kann, die man in Anlehnung des Terminus "Urämische Sympathikopathie" (HENNEMANN et al., 1973) als "Cholämische Sympathikopathie" bezeichnen könnte.
Die Pathogenese der Katecholaminverarmung des Herzens bei Leberstörungen ist bisher nicht geklärt. Die Vielzahl der zum Teil widersprüchlichen Hypothesen über biochemisch faßbare Störungen beim Leberkoma wurden von B.FISCHER (1976) kürzlich zusammengestellt. Da die Katecholaminkonzentration in Geweben erstens von der Synthese in der Peripherie der nervalen Axone, zweitens von der Umsatzgeschwindigkeit und drittens von der Aufnahme zirkulatorischer Katecholamine abhängt (BODDIN et al., 1973), können alle drei Prozesse zur Verminderung des Katecholamingehaltes führen. Von einigen Autoren wird bei der hepatischen Störung des adrenergen Nervensystems eine Blockade der Synthese des Noradrenalins angenommen (SARRAZIN et al., 1971). Andere Autoren erwähnen unter den möglichen Ursachen auch eine Verminderung des Umsatzes, wobei die Dopamin-ß-hydroxylase eine Rolle spielen könnte (BRISSOT et BOUREL, 1974). In diesem Zusammenhang darf vermutet werden, daß eine Schädigung der Leber als zentrales Organ der Eiweißsynthese auch Störungen der Enzymsynthese zur Folge haben könnte, die im Katecholaminmetabolismus eine Rolle spielen. Eine verminderte Aufnahme zirkulierender Katecholamine kommt als Ursache der Katecholaminverarmung nicht in Betracht, da eine Störung der Aufnahme höchstens zu einer Verringerung von etwa 20 % des Transmittergehaltes führen würde (KOPIN und GORDON, 1963). Außer den erwähnten

Mechanismen der Katecholaminverarmung wird in letzter Zeit besonders die Rolle falscher Transmitter, insbesonders des Octopamins, diskutiert (FISCHER,J.E., 1974). Es wurde beim akuten hepatischen Koma eine signifikante Vermehrung des Octopamins im Herzen und Gehirn der Ratte festgestellt (FISCHER und JAMES, 1972). Dabei ist zu erwähnen, daß Octopamin nur eine sehr geringe sympathische Aktivität aufweist, die nur 1/50 der Wirksamkeit des Noradrenalins ausmacht. Octopamin wird in den Granula der sympathischen Nervenendigungen aufgenommen und verdrängt hier Dopamin und Noradrenalin (COHEN et al., 1966; BALDESSARINI und VOGT, 1971). Das Auftreten von Octopamin wird von verschiedenen Autoren (Literaturübersicht bei FISCHER,B., 1976) auf eine ß-Hydroxylierung des bei Lebererkrankungen vermehrt anfallenden Tyramins zurückgeführt. Octopamin soll aber auch als falscher Transmitter durch Darmbakterien erzeugt werden und bei portokavaler Anastomose bzw. Umgehungskreisläufen der Leber sowohl in die peripheren als auch zentralen Neurone eingeschleußt werden (MANGHANI et al., 1975). Bei Lebererkrankungen wurden erhöhte Spiegel von Octopamin im Blut und im Urin nachgewiesen (LAM et al.,1973; MANGHANI et al., 1975). Morphologische Studien über die Folgen der Einlagerung von Octopamin in adrenergen Axonen liegen unseres Wissens nicht vor. Die Bedeutung der Störung des Transmitterstoffwechsels liegt darin, daß Noradrenalin nicht nur als erster hormonaler Bote (SUTHERLAND, 1965) über Zyklo-AMP zellspezifische Endreaktionen zur Steigerung der Kontraktilität auslöst, sondern auch für den basalen Gefäßtonus in der Peripherie verantwortlich ist.

Bereits 1942 hat REIN auf die enge Beziehung zwischen Leber- und Herzstoffwechsel hingewiesen. Diese Überlegungen werden durch klinische Beobachtungen gestützt, daß der periphere

vaskuläre Widerstand bei Leberkranken verringert ist und daß daher bei Leberzirrhose meistens eine Hypotonie besteht (MURRAY et al., 1958; SPATT und ROSENBLATT, 1949; LOYKE, 1962; MASHFORD, 1962). Erst kürzlich konnte eine Beeinträchtigung der kardiovaskulären Reaktionsbereitschaft auch bei noch kompensierter Leberzirrhose beobachtet werden (LUNZER et al., 1975). Über die therapeutische Beeinflussung der hypodynamischen Kreislaufstörung und auch des hepatischen Komas durch L-Dopa ist in den letzten Jahren von zahlreichen Autoren berichtet worden (FISCHER,J.E. und JAMES, 1972; SARRAZIN et al., 1971; PARKES et al., 1970; KNELL et al., 1972; LUNZER et al., 1973). Bei chronischer Leberschädigung liegt demnach eine metabolische Myokardiopathie vor, bei der das Noradrenalin eine zentrale Rolle spielt. Möglicherweise müssen auch fokale Schädigungen der Myokardiozyten (Abb. 8) im Rahmen einer solchen Störung verstanden werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden nicht nur biochemisch und fluoreszenzmikroskopisch faßbare Störungen des Transmittergehaltes erfaßt, sondern darüber hinaus der Beweis für eine Schädigung der Herznerven im elektronenmikroskopischen Bild vorgelegt.

Legenden zu den Abbildungen und der Tabelle

Abb. 1 a) normale Rattenleber, HE, X 96
b) multiple Gallengangsproliferationen im Randbereich ödematös aufgelockerter Portalfelder, acht Wochen nach Ligatur des Ductus choledochus; HE, X 65

Abb. 2 Katecholaminkonzentration in 92 Rattenherzen (Vorhöfe und rechter Ventrikel) nach Ligatur des Ductus choledochus und nach Scheinoperation.

Abb. 3 Noradrenalinfluoreszenz in intramuralen und zum Teil perivaskulären Terminalfasern im rechten Herzohr einer Kontrollratte (a) und 10 Wochen nach Ductus Ligatur (b). Erhaltene Mastzellfluoreszenz (jeweils rechts oben) und Schwächung der Fluoreszenzintensität der Nervenfasern in b; Falck'sche Methode; X 200

Abb. 4 Übersicht über vegetative Nervenfasern des rechten Herzohrs bei Kontrollratte (a) und 10 Wochen nach Ductus Ligatur (b). Beim Kontrolltier normale Architektur mit Anschnitten des Kerns der Schwann'schen Zelle (N) und zahlreichen unauffälligen Axonen (A). Nach Ductus-Ligatur von Vakuolen aufgelocker te Axone (A) im glykogenreichen Zytoplasma (C) der Schwann'schen Zelle. X 19200.

Abb. 5 Leichte intraaxonale Schäden (a) mit partiellem Strukturverlust eines Axons (Pfeil). Schwere fokale intraaxonale Nekrosen (Pfeile) mit Resten von Granula sowie intraaxonales Lipofuszin (X) in (b). Ductus-Ligatur 10 Wochen; X 48000 (a), 44400 (b).

Abb. 6 Mitochondrienveränderungen in vegetativen Herznerven 10 Wochen nach Ligatur des Ductus choledochus: Mitochondriose mit ungewöhnlich schlanken Mitochondrien (X) und fraglichen Teilungsfiguren in (a). Verschiedene Stadien der Mitochondrienschwellung (a und b). X 38400 (a); X 48000 (b); 44400 (c).

Abb. 7 Veränderungen der Granula 10 Wochen nach Ductus-Ligatur. Einzelne geschwollene adrenerge Vesikel mit zum Teil granulärem Inhalt (a und c). Außerdem intraaxonale Lipidtropfen (L). Daneben erhaltene granuläre Vesikel (X). Ungewöhnlich großer Dichtekörper mit angedeuteter feintubulärer Matrix und sogenannter Rundplatte (b). X 46800 (a); X 38400 (b); X 46800 (c).

Abb. 8 Herzmuskelzelle mit subsarkolemmalen Mitochondrienveränderungen:: Übergang der Christae in feingranulär e Matrix und in Myelinfiguren. Dazwischen ein lipidhaltiges Zytosegrosom. X 30000.

Tab. 1 Noradrenalingehalt (µg/g Feuchtgewicht) bei 92 Rattenherzen.

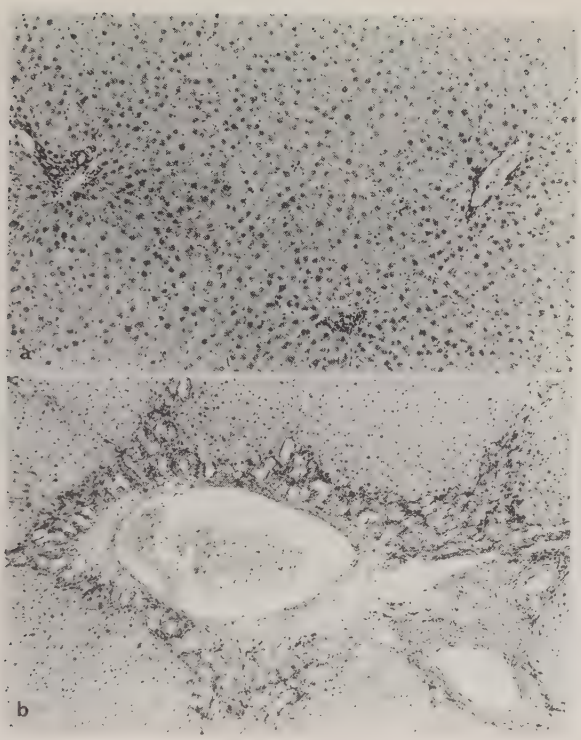

Abb. I

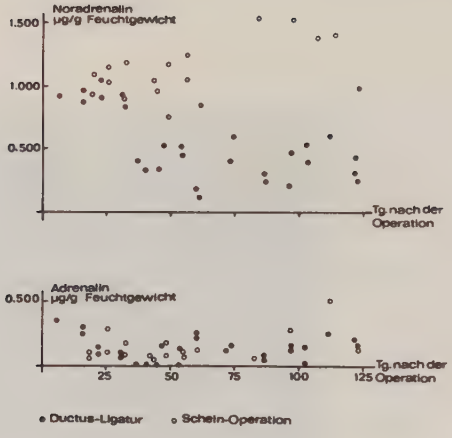
Noradrenalin
µg/g Feuchtgewicht
1.500
1.000
0.500
Tg. nach der Operation
Adrenalin
µg/g Feuchtgewicht
0.500
25
50
75
100
125
Tg. nach der Operation
• Ductus-Ligatur
○ Schein-Operation

Abb. 2

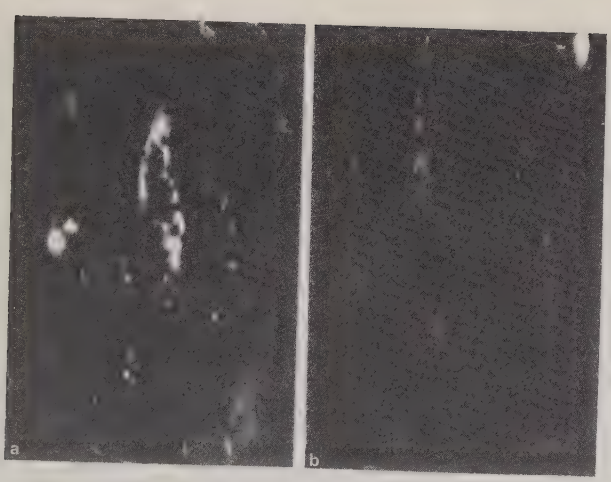

Abb.3

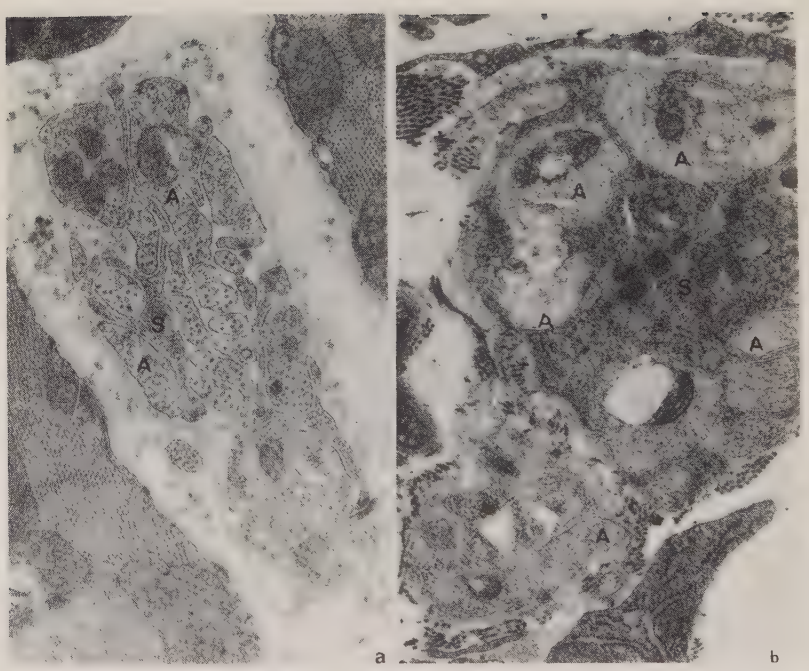

Abb.4

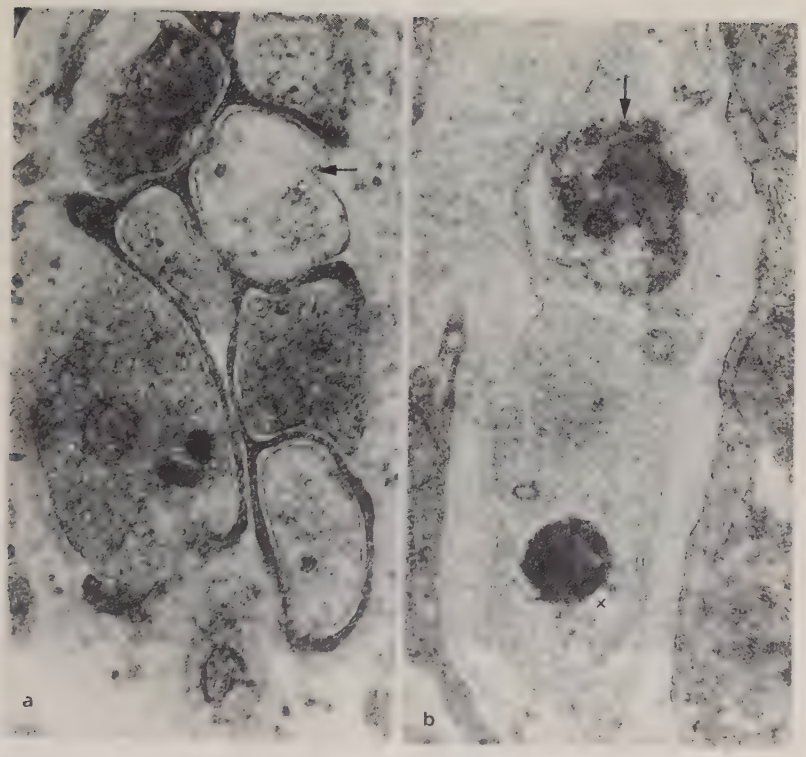

Abb. 5

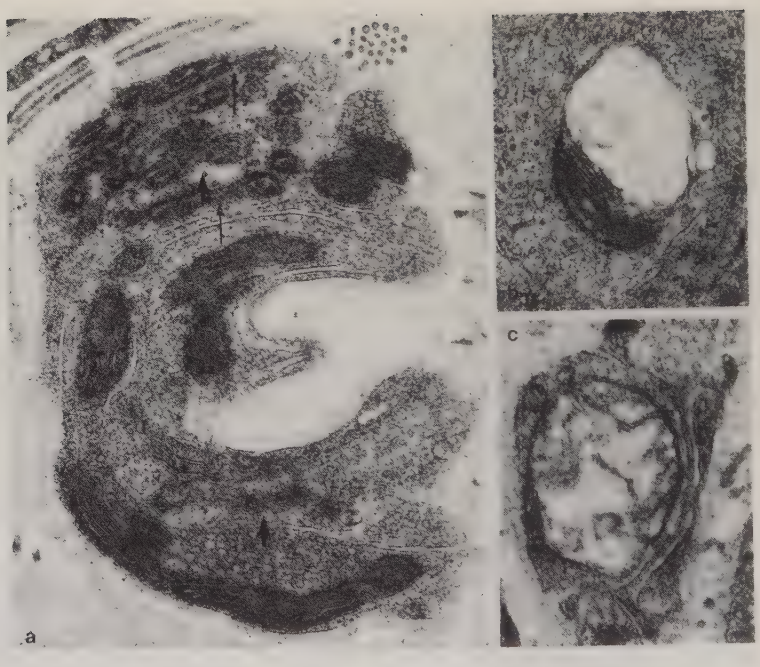

Abb. 6

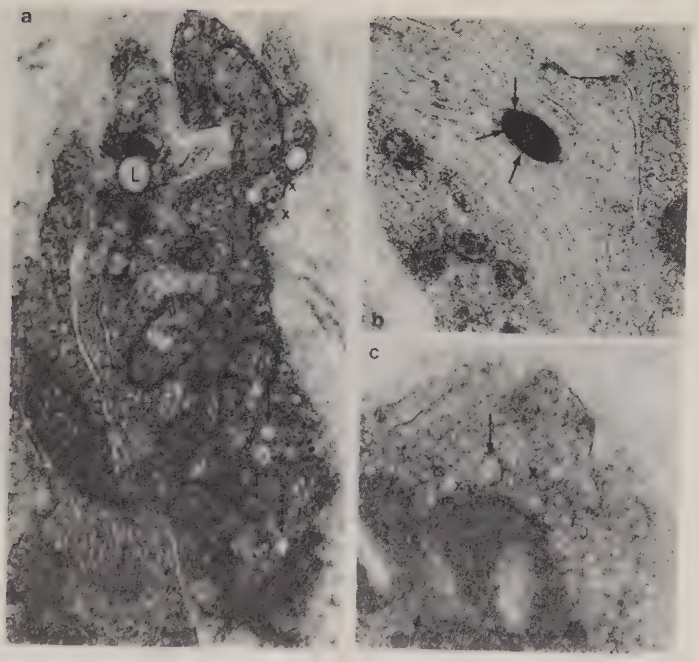

Abb.7

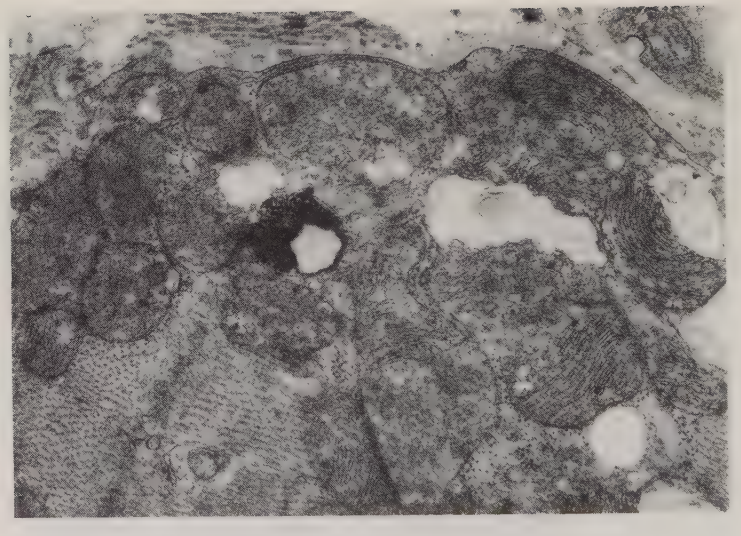

Abb.8

Op.-Art	Tage nach der Operation			Mittel-werte
	1.-30.	31.-60.	61.-123.	
Schein-Op n=36	1,05±0,04	1,03±0,06	1,27±0,12	1,12±0,05
D.-Ligatur n=56	0,95±0,03	0,55±0,08	0,37±0,04	0,53±0,05

Tab.1 Noradrenalingehalt (µg/g Feuchtgewicht) bei 92 Rattenherzen.

Literaturverzeichnis

Baldessarini, R.J.; Vogt,M.:

The uptake and subcelluar distribution of aromatic amines in the brain of the rat
J.Neurochem.; 18, 2519-2533 (1971)

Becker,H.:

Fluoreszenzhistochemie biogener Amine
Mikroskopie; 26, 153-168 (1970)

Bertler,Å.; Carlsson,A.; Rosengren,E.;
A method for the fluorimetric determination of adrenaline, noradrenaline and dopamine i- tissues
Acta physiol.scand.; 44, 273-292 (1958)

Björklund,A.; Falck,B.; Owman,C.:

Fluorescence microscopic and microspectrofluorometric techniques for the celluar localization and characterization of biogenic amines
In: Methods of investigative and diagnostic endocrinology (Ed.: S.A.Berson) vol. 1:
The thyroid and catecholamines (Eds.: Rall,J.E. and Kopin,I.J.)
North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 318-368, (1972)

Boddin,M.; Van Bogaert,A.; Dierick,W.:

Catecholamines in blood and myocardial tissue in experimental subarachnoidal hemorrhage
Cardiology 58, 229-237 (1973)

Borchard,F.:

Die adrenergen Nerven im normalen und hypertrophierten Herzen (Biochemische, histochemische, elektronenmikroskopische und morphometrische Untersuchungen)
Habilitationsschrift, Düsseldorf, 1975, 97 S. und 36 Abb.

Borchard,F.:

The adrenergic nerves of the normal and hypertrophied heart. (Biochemical, histochemical, electronmicroscopic and morphometric studies
Reihe: Normale und Pathologische Anatomie (Monographien)
Hrsg. W.Bargmann und W.Doerr
In press (Georg Thieme Verlag, Stuttgart) Bd. 33

Borchard,F., Vogt,M.:

Noradrenaline content of the heart of the adrenaldemedullated rat
Brit.J.Pharmacol., 38, 50-55 (1970)

Brissot,P., Bourel,M.:

Les faux-neurotransmetteurs adrenergiques en hepatologie
La Nouvelle Presse medicale, 3,n° 15, 947-950, (1974)

Chiba,T., Yamauchi,A.:

On the fine structure of the nerve terminals in the human myocardium
Z.Zellforsch., 108, 324-338 (1970)

Cohen,R.A., Kopin,I.J., Creveling,C.R., Musacchio,J.M., Fischer,J.E., Crout,J.R., Gill,J.R.:

False neurochemical transmitters
Ann.Int.Med., 65, 347-362 (1966)

Donath,K.:

Ultrastrukturelle Veränderungen vegetativer Nerven der Rattenparotis nach Äthionin. Ein Beitrag zur Ätiologie der dystrophisch-metabolischen Sialodose
Verh.Dtsch.Ges.Path., 59, 571 (1975)

Donath,K.; Seifert,G.:

Ultrastructural studies of the parotid glands in sialodenosis
Virchows Arch., A.Path.Anat. and Histol., 365, 119-135 (1975)

Euler,U.S.von; Lishajko,F.:

Improved technique for the fluorimetric estimation of catecholamines
Acta physiol.Scand., 51, 348-355 (1961)

Falck,B.:

Observations on the possibilities of the celluar localization of monoamines by a fluorescence methode
Acta physiol.scand., 56, Suppl. 197, (1962)

Falck,B.; Owman,C.:

A detailed methodical description of the fluorescence method for the celluar demonstration of biogenic monoamines
Acta Univ.Lund, Sectio II, 7, 1-23 (1965)

Fischer,B.:

Biochemie hepatischer Enzephalopathien
Verlag Gerhard Witzstrock (1976)

Fischer,J.E.:

False neurotransmitters and hepatic coma
Res.Publ.Assoc.Nerv.Ment.Dis., 53, 53-73 (1974)

Fischer,J.E.; Baldressarini,R.J.:

False neurotransmitters and hepatic failure
The Lancet, 10, 75-80 (1971)

Fischer,J.E.; James,J.H.:

Treatment of hepatic coma and hepatorenal syndrome
The Am.Journal of Surg., 123, 222-230 (1972)

Hamberger,B.; Malmfors,T.; Sachs,Ch.:

The standardization of paraformaldehyde and of certain procedures for the histochemical demonstration of catecholamines
J.Histochem.Cytochem., 13, 147 (1965)

Hennemann,H.; Hevendehl,G.; Reble,B.; Heidland,A.:

Untersuchungen zur urämischen Sympathikopathie in vitro und in vivo
Dtsch.med.Wschr., 98, 1630-1632 (1973)

Huth,F.; Wilde,A.; Schulten,H.J.; Berger,S.:

Morphologische Beiträge zur Pathophysiologie des Lymphgefäßsystems der Leber
Virchows Arch.Abt.A.Path.Anat., 351, 41-67 (1970)

Kekki,M.; Pentikäinen,P.; Mustala,O.:

Biliary excretion and enterohepatic circulation of ^{14}C-5-hydroxytryptamine in normal and cirrhotic rats
Gastroenterology, 67, 700-708 (1974)

Kimball,S.:

Über die Frage der neugebildeten Gallengänge bei Choledochusunterbindung und ihre Beziehungen zu den Leberzellen
Beitr.path.Anat., 93, 279-302 (1933)

Knell,A.J.; Curzon,G.; Pratt,O.E.; Williams,R.:

Neurotransmitter and aminoacid metabolism in acute hepatic coma
Digestion, 6, 287-288 (1972)

Kopin,I.J.; Gordon,E.K.:

Origin of norepinephrine in the heart
Nature (London), 199, 1289 (1963)

Lam,R.C.; Goldstein,G.B.; Tall,A.R.; Mistillis,S.P.:

The role of the false neurotransmitter octopamine in the pathogenesis of hepatic encephalopathy
Aust.N.Z.J.Med., 3, 102-103 (1973)

Loyke,H.F.:

Reduction of hypertension after liver disease
Arch.Intern.Med. (Chic.) 110, 45-49 (1962)

Loyke,H.F.:

Hypertension and liver disease: a clinical and experimental review
Amer.J.Gastroent., 38, 56-59 (1962)

Lunzer,M.; James,I.M.; Sherlock,S.:

Treatment of chronic hepatic encephalopathy with levodopa
Digestion, 8, 530 (1973)

Lunzer,M.R.; Manghani,K.K.; Newman,St.P.; Sherlock,S.; Bernard,A.; Ginsburg,J.:

Impaired cardiovascular responsiveness in liver disease
Lancet 2, 382-385 (1975)

Manghani,K.K.; Lunzer,M.R.; Billing,B.H.; Sherlock,S.;

Urinary and serum octopamine in patients with portal-systemic encephalopathy
The Lancet,Nov. 15, 943-946 (1975)

Mashford,M.L.; Mahon,W.A.; Chalmers,T.C.:

Studies of the cardiovascular system in the hypotension of liver failure
The New England J.of Med., 22, 1071-1074 (1962)

Moore,R.A.; Hellman,L.M.; Jacobius,H.:

Effect of parabiosis on the hepatic changes following obstruction of the common bile duct in rats
Arch.Path., 34, 196-198 (1942)

Murray,J.F.; Dawson,A.M.; Sherlock,S.:

Circulatory changes in chronic liver disease
Am.J.Med., 24, 358-367 (1958)

Novi,A.M.:

An electron microscopic study of the innervation of papillary muscles in the rat
Anat.Rec., 160, 123-142 (1968)

Ogata,T.:

Beiträge zur experimentell erzeugten Lebercirrhose und zur Pathogenese des Ikterus mit spezieller Berücksichtigung der Gallenkapillaren bei der Unterbindung des Ductus choledochus und der Ikterogenvergiftung
Beitr.path.Anat., 55, 236-321 (1912)

Parkes,J.D.; Sharpstone,P.; Williams,R.:

Levodopa in hepatic coma
The Lancet, 26, 1341-1343 (1970)

Popper,H.:

Cholestasis
Ann.Rev.Med., 19, 39-56 (1968)

Popper,H., Schaffner,F.:

Pathophysiology of cholestasis
Hum.Pathol., 1, 1-24 (1970)

Rein,H.:

Physiologische Beziehungen zwischen der Leber und dem Energiestoffwechsel des Herzens
Klin.Wschr., 40, 873-877 (1942)

Ritzen,M.:
Quantitative fluorescence microspectrophotometry of catecholamine-formaldehyde products
Exp.Cell Res., 44, 505-520 (1966)

Sarrazin,A., Emerit,J., Olivier,L., Rebelo,F., Bousquet,O.:

Traitement du coma hepatique par la 1-dopa
Premiers resultats
La Presse Medicale, 79, 2226-2227 (1971)

Spatt,S.D., Rosenblatt,P.:

The incidence of hypertension in portal cirrhosis:
A study of 80 necropsied cases of portal cirrhosis
Ann.intern.Med., 31, 479-483 (1949)

Sutherland,E.W., Oye,I., Butcher,R.W.:

The action of epinephrine and the role of the adenyl cyclase system in hormone action
Recent Progr.Hormone Res., 21, 623-646 (1965)

Tyce,G.M., Flock,E.V., Owen,C.A.Jr.:

5-Hydroxyindole metabolism in the brain after hepatectomy
Biochem.Pharmacol., 16, 979-992 (1967)

Vogt,M.:

The concentration of sympathin in different parts of the central nervous system under normal conditions and after administration of drugs
J.Physiol. (Lond.), 123, 451-481 (1954)

Wallhöfer,H., Schmidt,E., Schmidt,F.W.:

Synopsis der Lebererkrankungen
p. 226
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1974)

Winckler,J., Hennemann,H., Heidland,A., Wigand,M.E.:

Katecholamingehalt adrenerger Nerven in Speicheldrüsen mit gestörter Elektrolytausscheidung bei Urämie
Klin.Wschr., 51, 1115-1123 (1973)

Zeckwer,I.T.:

Proliferation of the epithelium of intrahepatic bile ducts in parabiotic rats following obstruction of the bile ducts
Arch.Path., 47, 424-428 (1949)

An dieser Stelle sei es mir gestattet, Herrn Professor Dr.med.F.Borchard für die Überlassung des Themas sowie für die Unterstützung bei der Auswertung der elektronenmikroskopischen Ergebnisse aufrichtig zu danken.

Mein Dank gilt auch Frau Ernser für die Aufarbeitung der histologischen Präparate.

Lebenslauf

Am 3.Juni 1950 wurde ich als zweiter Sohn der Eheleute Ludwig und Gertrud Wolters,geb. Flintrop,in Kempen geboren.
Von April 1956 bis März 1964 besuchte ich die katholische Knabenvolksschule in Kempen.
Im April 1964 schloß ich mit der Elektrochemischen Fabrik Kempen GmbH einen Lehrvertrag als Chemielaborjungwerker ab.
Nach der bestandenen Abschlußprüfung im März 1966 wurde mir die Möglichkeit geboten,einen Aufstocklehrvertrag als Chemielaborant abzuschließen,der im März 1968 beendet war.
Von August 1968 bis Juni 1972 besuchte ich dann,neben meiner Tätigkeit als Chemielaborant,das Abendgymnasium in Kempen.
Im November 1972 begann ich an der Universität Düsseldorf das Studium der Humanmedizin.Das Internatsjahr absolvierte ich von April 1978 bis Mai 1979 in den Städtischen Krankenanstalten in Krefeld.Mein Studium endete im Mai 1979,nachdem ich den dritten Abschnitt der ärztlichen Prüfung erfolgreich bestanden hatte.
Seit Anfang Juni 1979 arbeite ich als Wissenschaftlicher Assistent am Pathologischen Institut der Universität Düsseldorf.

Krefeld,den 4.Juli 1979

Norbert Wolters